

## СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ

А.Г.Саркисян

*/Отдел биохимии Республиканского гематологического центра/  
375014 Ереван, ул. Нерсисяна, 7*

**Ключевые слова:** биомембраны, фосфолипиды, радиация, рентгенография

В работе приведены результаты исследования изменений структурных характеристик мембран гепатоцитов животных под воздействием радиации с целью оценки вклада фосфатидогенеза в механизм нарушения функций биомембран, составляющих основу патологических отклонений в клеточном метаболизме.

Методом рентгенографии установлены структурные перестройки, меняющие проницаемость липидных мембран гепатоцитов, которые обусловлены количественными и качественными изменениями компонентов, выявленными биохимическими исследованиями. Актуальность проблемы потенциальной опасности ионизирующей радиации постоянно возрастает. Доказано, что увеличение частоты злокачественных новообразований — одно из наиболее серьезных отдаленных последствий лучевого воздействия [3]. При изучении действия облучения на внутренние органы показано, что наиболее резистентными к облучению являются печень, легкие и сердце. Однако в современных представлениях о механизмах развития нарушений функций этих органов остается много неясного [1,2,9]. Вместе с тем очевидно, что нарушение метаболизма фосфолипидов может привести к расстройству функций различных мембранных структур клеток. В связи с этим в настоящей работе проведено изучение изменений структурных характеристик и скорости обновления липидных компонентов мембран гепатоцитов животных после действия сублетальных доз радиации с целью оценки вклада фосфатидогенеза в механизм нарушения функций биомембран, составляющих основу патологических отклонений в клеточном метаболизме.

### Материал и методы

Исследование проводили на белых крысах линии Вистар массой 160—170 г. Облучение осуществлялось на аппарате РУМ-17 в дозе 400 Р, мощность дозы 0,26 Гр/мин, кожно-фокусное расстояние — 60 см. Крысы

забивали декапитацией через 10 дней после облучения. Микросомальные мембраны гепатоцитов выделяли методом дифференциального центрифугирования.

Об интенсивности включения  $^{14}\text{C}$ -глицерина в индивидуальные фосфолипиды печени судили после внутрибрюшинного введения препарата в дозе 30  $\text{МкКи}$  на крысу массой 160–170 г. Длительность радиоактивной экспозиции – 45 мин.

Фракционирование отдельных фосфолипидов микросомальных мембран гепатоцитов осуществляли методом тонкослойной хроматографии в нашей модификации [4,7] на закрепленном слое силикагеля марки ЛС 5/40  $\text{мк}$ , затем определяли липидный фосфор [6]. Для исследования фосфатидогенеза индивидуальные фосфолипиды фракционировали методом препаративной двухмерной тонкослойной хроматографии [7]. Степень включения *in vivo* радиоактивности в состав липидов измеряли на сцинтилляционном спектрофотометре SL-4221 (фирма "Intertechnique", Франция).

Изучение изменений структурных характеристик биомембран проводили методом дефракции рентгеновских лучей на рентгеновской установке УРС с камерами типа РКСО и КРОН, переделанными нами для регистрации дифракции под малыми углами излучения [10]. С этой целью выделение липидов из печеночной ткани осуществляли методом Folch [8]. Для высушивания липидов использовали ротационный вакуумный испаритель и ток газообразного азота.

Липиды, выделенные из тканей живого организма, спонтанно создают жидкие кристаллы путем гидратации молекул парами воздуха. Создаваемые организации зависят от компонентов липидной фракции. Малейшее количественное и качественное изменение последних, действуя на межмолекулярное взаимодействие, приводит к молекулярной, надмолекулярной и ультрамолекулярной перестройке и даже к фазовому изменению жидкокристаллических структур [9].

После выделения липидная фракция из воздуха поглощает молекулы воды и образует жидкокристаллические мезофазы. Об этом свидетельствует информация (рефлексы), зафиксированная рентгенограммой. Головки липидных молекул за счет своих гидрофильных свойств соединяют молекулы воды, а углеводородные цепочки за счет гидрофобных свойств направляются вне агрегата, создавая обратножидкокристаллические фазы (прямые фазы образуются при относительно больших концентрациях воды) [5].

### Результаты и обсуждение

Структурные перестройки липидов печени отражены в табл. 1, где приведены межплоскостные расстояния рефлексов и их относительная интенсивность в норме и после облучения.

В норме на рентгенограммах липидных фракций, выделенных из печени, возникают рефлексы, характерные для поликристалла с идентичными расстояниями  $3,9$  ;  $4,6$  ;  $29,6$  Å. Рефлексу  $4,6$  Å соответствует диффузное гало, которое возникает от "жидкого состояния" углеводородных цепочек [5]. Идентичное расстояние  $3,9$  Å свидетельствует о поликристалльном строении системы, где кристаллики относительно друг друга ориентированы хаотично и физические свойства по всем направлениям изотропны. Липиды в системе образовали слои мономолекулярной толщины, о чем свидетельствует рефлекс  $29,6$  Å.

В липидных фракциях, выделенных из печени после облучения, возникают существенные изменения, которые выявляются на рентгенограммах. После облучения в дозе  $400$  Р возникает увеличение толщины слоя, исчезает диффузное гало, а рефлекс  $3,9$  Å становится тоньше с меньшей интенсивностью. При этом вытягиваются углеводородные цепочки, изменяя проницаемость мембраны.

Таблица 1

Межплоскостные расстояния ( $d$ ) и относительная интенсивность ( $I$ ) рефлексов липидных фракций печеночной ткани белых крыс

| Норма   |      | После облучения |     |
|---------|------|-----------------|-----|
| $d$ (Å) | $I$  | $d$ (Å)         | $I$ |
| 3,9     | 10   | 3,9             | 7   |
| 4,6     | гало |                 |     |
| 29,6    | 100  | 32,9            | 100 |

Таким образом, в общих фракциях липидов, выделенных из печени подопытных животных, подвергнутых действию рентгеновских лучей в дозе  $400$  Р, возникают структурные перестройки, которые, по всей вероятности, обусловлены количественными и качественными изменениями компонентов мембран. Это предположение подкрепляется биохимическими исследованиями.

Как показали результаты проведенных исследований, у интактных животных включение *in vivo* метки, равномерно меченной  $^{14}\text{C}$ -глицерином, в состав фосфолипидов микросомальных мембран гепатоцитов уменьшается в такой последовательности: фосфатидилхолины (ФХ) > сфингомиелины (СФМ) > фосфатидилинозиты (ФИ) > лизофосфатидилхолины (ЛФХ) > фосфатидилэтаноламины (ФЭ) > дифосфатидилглицерины (ДФГ) > фосфатидные кислоты (ФК) > фосфатидилсерины (ФС) (табл.2).

Через 10 дней после облучения дозой 400 Р отмечается заметное снижение включения метки в суммарные фосфолипиды, в то время как изменение распределения радиоактивности между отдельными фракциями фосфатидов характеризуется, с одной стороны, уменьшением интенсивности включения радиоактивной метки в ФИ, СФМ, ФХ, ФЭ и, наоборот, увеличением — в ЛФХ, ФС, ФК иДФГ.

Таблица 2

Включение *in vivo*  $^{14}\text{C}$ -глицерина в отдельные фракции фосфолипидов микросомальных мембран гепатоцитов белых крыс на 10-й день после облучения дозой 400 Р (% от общего)

| Фракция ФЛ               | Контроль     | Опыт         | P<   |
|--------------------------|--------------|--------------|------|
| ЛФХ                      | 19,20±2,18   | 28,10±3,46   | 0,05 |
| ФИ                       | 19,60±1,60   | 9,10±1,98    | 0,01 |
| СФМ                      | 22,30±1,74   | 15,10±2,30   | 0,05 |
| ФХ                       | 25,70±2,63   | 21,35±2,40   | 0,5  |
| ФЭ                       | 11,60±1,70   | 6,80±1,60    | 0,05 |
| ФС                       | 2,90±0,50    | 6,30±1,03    | 0,05 |
| ФК                       | 3,70±1,48    | 16,40±1,91   | 0,01 |
| ДФГ                      | 3,80±1,38    | 7,23±3,86    | 0,05 |
| Общие ФЛ<br>(распад/мин) | 206379±28994 | 155570±23287 | 0,05 |

Высокий уровень ЛФХ — цитотоксичных продуктов липолиза в патологически измененных структурных образованиях гепатоцитов является результатом активации фосфолипазы  $A_2$ , обеспечивающей расщепление мембранных фосфатидов-глицеридов и эстерификацию полиеновых жирных кислот, вовлекающихся в реакции свободнорадикального окисления. Нарушение процессов обновления важнейших компонентов мембранных структур может быть причиной глубоких конформационных изменений биологических мембран и отклонений в их функциональной активности, составляющих основу сложного патологического комплекса состояния организма.

Поступила 30.01.97

Աշխատանքում ուսումնասիրված են ճառագայթման ազդեցությունից հետո կենդանիների հեպատոցիտների լիպիդային կոմպոնենտների կառուցվածքային բնութագրերի փոփոխությունները, որոնք բջջային մետաբոլիզմում ախտաբանական շեղումների հիմք են հանդիսանում:

Ռենտգենաբանական վերլուծության մեթոդով պարզաբանված են լիպիդային քաղանթների քափանցելիությունը փոփոխող կառուցվածքային վերադասավորումները, որոնք պայմանավորված են կենսաքիմիական մեթոդներով հաստատված կոմպոնենտների որակական և քանակական փոփոխությամբ:

## THE STATE OF GEPATOCITARY MEMBRANES AFTER THE RADIATION

A.G. Sarkissian

The changes of structural characteristics of animals hepatocitary membranes, which are the basis of pathological deflexion in the cellular metabolism have been studied.

Roentgenography was employed to study the structural rebuildings which change the penetration of lipid membranes, conditioned by the qualitative and quantitative changes of components are revealed by biochemistry.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлакова Е.Б. Информ. Биол. науч. совета АН СССР по проблеме радиобиологии. М., 1979, 22, с. 3.
2. Дворецкий А.И., Айрапетян С.Н. и др. Трансмембранный перенос ионов при действии ионизирующей радиации на организм. Киев, 1990.
3. Жербин Е.А., Чухловин А.Б. В кн.: Радиационная гематология. М., 1989, с.19.
4. Казарян П.А., Элюян Д.В. Хроматографические методы. М., 1982.
5. Саркисян А.Г. Рентгенографические и поляризационно-микроскопические исследования многокомпонентных лиотропных жидких кристаллов. Канд. дис. Свердловск, 1983.
6. Светанев В.И. Автореф. канд. дис. Владивосток, 1973.
7. Штоля Э. Хроматография в тонких слоях. М., 1965.
8. Folch C.B., Zees M., Slaane Stanly G.H. J. Biol. Chem., 1957, 226, p. 497.
9. Suzuki S., Doio O., Akamatsu J.J. Radiat. Res., 1980, 21, 1, p. 52.
10. Luzzaty X-ray diffraction studies of lipid water systems in biological membranes. London, Acad. Press, 1968.